

Izolált enzimmel végrehajtott lúgos foszfatáz próba és létjogosultsága IV.*

WAGNER ATTILA, HORVÁTH LÓRÁND** KISS TIBOR és
GYETVAI JUDIT

Tejtermékek Ellenőrző Állomása, Budapest

Érkezett: 1980. január 10.

Az előző, ugyanazon tárgyú szabványosítást megelőzően az Állatorvostudományi Egyetem Élelmiszerhigiéniai Tanszékével közösen megállapítottuk, hogy a lúgos foszfatáz enzim az irodalommal ellentétben nem inaktiválódik mindig 65 °C-on 5 perc, vagy 70 °C-on pillanatnyi hőbehatásra. Észleltük ugyanis, hogy olykor 65 °C-on már pillanatnyi hőbehatás alatt is bekövetkezik az inaktiválódás. Ismert az a közfelfogás, hogy a lúgos foszfatáz enzim hőokozta inaktiválódása együtt jár a szarvasmarha gümőkór okozójának hőpusztulásával. Ez utóbbi állítás csak akkor lehet igaz, ha a tej normális összetételű és mindenféle mikróbas erjedéstől mentes. Így *Bang Bernát* (1) szerint az ilyen tejben a gümőkór okozója 60 °C-ra 5 percre, 70 °C-on pillanatnyi felmelegítés esetén is elpusztul.

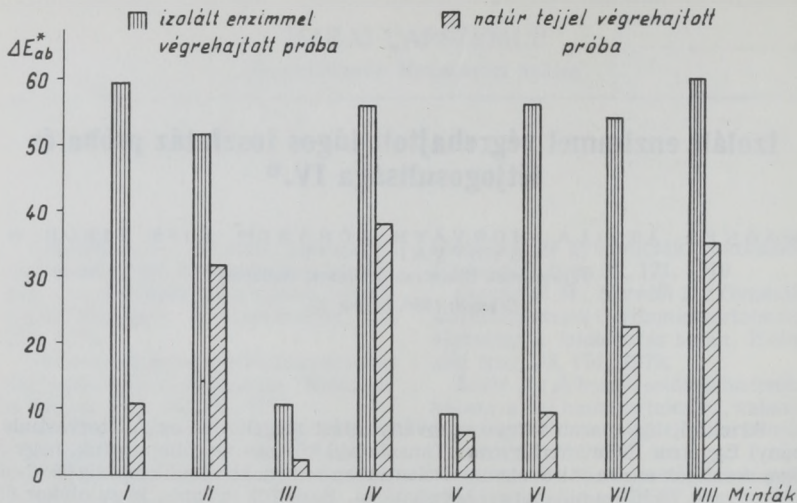
Ha a tej kórosan (tőgygyulladásos) élettanilag elváltozott (friss- és öregfejtős tej) tejeiket is tartalmaz, mikrobákkal való erős szennyezettsége miatt erjedt (pl. savanyú, savanyú tejet tartalmaz), akkor magasabb (75, 85 °C) hőmérséklet is kevés a gümökbaktériumok elpusztításához (2). Ennek oka, hogy a jelenlevő tej- és egyéb sav miatt a hőokozta kazein-, illetve az élettani és a kóros eredetű savófehérje kicsapódás a mikrobákat magabazárja és megvédi a hőpusztulástól. Sőt a lúgos foszfatáz próba mint a gümőkórmentesség indikátora vonatkozásában *Klimmer és Schönberg* (3) nyilntan ki is mondják: „Sicher ist, dass die Phosphatase-Destruction 70 °C nicht gleich ist der Destruction von Tuberkelbakterien und Colibakterien.”

Ez utóbbi készített arra, hogy a csecsemő- és az iskolatej ellenőrzésekor a vizsgálati módszert szigorítsuk.

A vizsgálat szigorításának feltétele azonban, hogy az ellenőrzési módszert érzékenyebbé és pontosabbá tegyünk. Ennek egyik útja ha a tejből izoláljuk és dúsítjuk az enzimet (4). A dúsításnak olyannak kell lennie, hogy a nyerstej 10⁻⁹ hígításban is kimutatható legyen a pasztőrözött tejben, mivel *Ostertag* szerint a tőgygümőkóros tej még ilyen nagy hígításban is fertőzheti a fogyasztót (1).

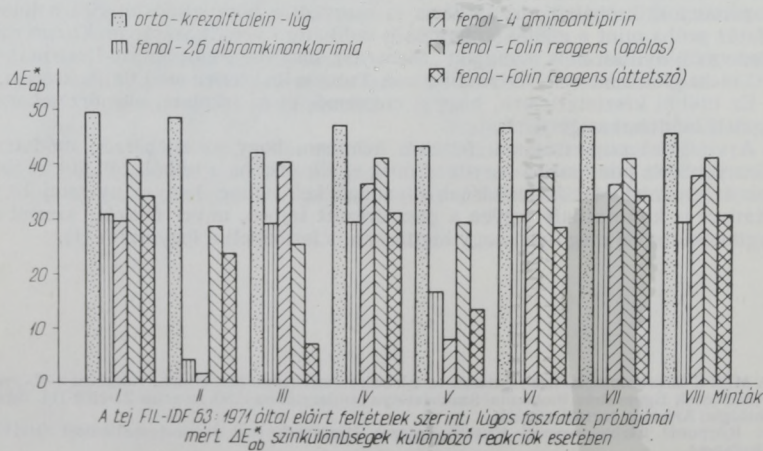
* A MÉTE Mikrobiológiai Szakosztálya és Élelmiszeranalitikai bizottsága, valamint a Magyar Kémikusok Egyesülete Biokémiai Szakosztálya rendezésében 1980. március 21-én a III. Enzimológiai Anketon tartott előadás.

** A Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet Méréstechnikai és Automatizálási Osztály Budapest.



1. ábra

A tejből izolált enzimmel, és a tej natúr mintaelemével végrehajtott lúgos foszfatáz próbánál mért ΔE_{ab}^* szinkülönbségek



A tej FIL-IDF 63:1971 által előírt feltételek szerinti lúgos foszfatáz próbájánál mért ΔE_{ab}^* szinkülönbségek különböző reakciók esetében

Lúgos foszfatáz próba értékelhetősége ΔE_{ab}^* értékekben o-krezoltaleinfoszfat alkalmazása esetén izolált enzimmel és tejjel párhuzamosan végrehajtva

Minta jele	Izolált enzim	Natur tej	Előjelel
I.	59,47	10,18	+
II.	51,97	31,69	+
III.	10,58	2,95	+
IV.	55,76	38,10	+
V.	9,11	6,80	+
VI.	56,34	9,56	+
VII.	54,00	22,59	+
VIII.	60,14	35,18	+

Vizsgálati anyagok és módszerek

Összehasonlító vizsgálatokhoz nyolc db 6,7 SH^o savasságú, nyers elegyetej használtunk, amelynek egyik mintaeleméből izoláltuk az enzimet, a másiktól nem. A vizsgálatokat az izolált, de nem dúsított enzimmel, és a natur tejjel hajtottuk végre párhuzamosan az általunk kidolgozott és szabványosított módszerrel (5, 6).

Az izolált enzimet élettani konyhasó-oldattal a tej eredeti térfogatára állítottuk vissza. A natur tejek és vele párhuzamosan az izolált enzimek lúgos foszfatása által felszabadított o-krezoltalein, és majd a hozzáadagolt lúg színreakcióinak objektív mérése ΔE_{ab}^* értékekben MOM-COLOR-S készülékkel történt.

Az eredmények számítása TPA-i számítógéppel Basic nyelven történt.

A $\Delta E_{ab}^* = 1$ = szabad szemmel épphogy észlelhető,

$\Delta E_{ab}^* > 1$ = szabad szemmel jól látható.

Vizsgálati eredmények és értékelésük

Az eredményeket a táblázat mutatja, amelyből az előjel próbával való értékelés során megállapítható (7), hogy az izolált enzimmel végzett vizsgálat mindig szignifikánsan jobban értékelhető mint magával a tejjel végrehajtott vizsgálat, mert az avval kapott értékek mindig jóval nagyobbak. Ettől függetlenül a reális szakirodalmi adatok általunk való ismertetése után a Tejipari Szabványosítási Bizottság az izolált enzimmel végrehajtott próba hivatalos használatát elvetette Klimmer és Schönberg indoklásával, amely az izolált enzimpróba is vonatkozatható (a 3-ból vett idézet), és a tej válogatását javasolták a magasabb hőkezelés és a szigorúbb vizsgálat helyett.

Szükség esetére az általunk a tejen is kimutatott, és egykor alkalmazott védőenzim (Abwehrferment) próbát javasoljuk, mint kiegészítő vizsgálatot a tej válogatásához (8, 9).

Azonos minta izolált enzimjével végrehajtott próbával nyert ΔE_{ab}^* értéket kivonjuk az azonos minta tejjel kapott értékéből; mindig pozitív értékeket kapunk. Ezért az előjel próba alapján a nullhipotézist elvetjük, és kimondjuk az alternatív hipotézist, hogy az izolált enzimmel végrehajtott próba szabad szemmel jobban értékelhetőbb.

Tapasztalati szórás: $S/\Delta E_{ab}^* = 0,60$.

I R O D A L O M

- (1) *Rievel, H., Fettick, O.*: Tejhigiene. Magyar Állatorvos Egyesület, Budapest, 1909.
- (2) *Kertay, N.*: Az Országos Korányi TBC Intézet Jubileumi Évkönyve, Budapest, 1961.
- (3) *Klümmer, M., Schönberg, F.*: Milchkunde und Milchhygiene. H. Schaper, Hannover, 1951.
- (4) *Lefranc, G., Han, K.*: Ann. Inst. Pasteur-Lille 18, 185, 1967.
- (5) *Wagner, A., Horváth, L., Kiss, T., Gyetvai, J.*: ÉVIKE, 24, 47, 1978.
- (6) MSZ 3710-79.
- (7) *Deák, T., Novák, E., Zukál, E., Fényes, T., Körmeny L.*: Kísérletek tervezése és értékelése. Magyar Kémikusok Egyesülete Biokémiai Szakosztálya, Budapest, 1969.
- (8) *Abderhalden, R.*: Klinische Enzymologie. G. Thieme, Stuttgart, 1958.
- (9) *Mall, G.*: Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin 109, 363, 1941.

ЩЕЛОЧНО – ФОСФАТАЗНАЯ ПРОБА ПРОВЕДЕННАЯ ИЗОЛИРОВАННЫМ ФЕРМЕНТОМ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ. IV.

A. Вагнер Л. Хорват, Т. Киши и Й. Дьетваи

Изолированным ферментом проведенная О-крезолфталейнофосфатная щелочно-фосфатазная проба восстановления молока на первоначальный объем, оценима лучше чем параллельно проведенная проба составной части образца натурального молока. При объективном измерении цвета реакции, изолированным ферментом, полученные величины ΔE_{ab}^* всегда сигнификантно выше. Всетаки Комитет по Стандартизации Молочной промышленности не разрешил официально применение данного метода, так как вопреки высокой чувствительности, показывает и отрицательные результаты, всетаки молоко может содержать бактерий туберкулоза.

По мнению Комитета по Стандартизации Молочной промышленности молоко применяемое для производства молока для малышей и школьников необходимо сортировать и для укомплектования рекомендуют применять авторами уже раньше предлагаемую реакцию защитного фермента (Абверфермент).

DIE MIT EINEM ISOLIERTEN ENZYM DURCHGEFÜHRTE ALKALISCHE PHOSPHATASEPROBE UND IHRE EXISTENZBERECHTIGUNG. IV.

A. Wagner, L. Horváth, T. Kiss und J. Gyetvai

Die mit dem zum ursprünglichen Volum der Milch wiederhergestellten isolierten Enzym durchgeführte alkalische Phosphataseprobe mit o-Kresolphthaleinphosphat war bewertbarer als die des parallel mit Naturmilch durchgeführten Musterelementes. Die bei der Objektiven Farbenmessung der mit dem isolierten Enzym durchgeführten Reaktionen erhaltenen ΔE_{ab}^* -Werte sind immer und auf eine signifikante Weise höher. Die amtliche Anwendung dieser Methode wurde trotzdem durch das Normungskomitee der Milchindustrie abgelehnt, weil die Probe trotz ihrer empfindlicheren negativen Ergebnisse die Tuberkulosebakterien der Milch enthalten kann. Nach der Meinung des Normungskomitees der Milchindustrie soll man die zur Herstellung der Säuglingsmilch und Schülermilch dienende Milch sorgfältig auswählen. Zur Ergänzung dieses Wahlvorganges wird die von der Verfassern schon früher angewandte, auch in der Milch nachweisbare Abwehrfermentreaktion empfohlen.